

**РОЛЬ ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ МОДИФИКАЦИИ БЕЛКОВ В РЕГУЛЯЦИИ
И РЕАЛИЗАЦИИ КЛЕТОЧНОЙ ГИБЕЛИ ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ В
УСЛОВИЯХ БЛОКИРОВАНИЯ СИНТЕЗА ГЛУТАТИОНА ПРИ
ОКИСЛИТЕЛЬНОМ СТРЕССЕ**

Носарева О. Л. ¹,
Степовач Е. А. ¹

¹ ФГБОУ ВО Сибирский государственный медицинский университет
Минздрава России, г. Томск, Россия.

**THE ROLE OF OXIDATIVE MODIFICATION OF PROTEINS IN THE
REGULATION AND REALIZATION OF CELL DEATH OF BLOOD
LYMPHOCYTES UNDER THE CONDITIONS OF BLOCKING
GLUTATHIONE SYNTHESIS UNDER OXIDATIVE STRESS**

Nosareva O. L. ^a,
Stepovaya E. A. ^a

^a Siberian State Medical University, Tomsk, Russia.

Резюме

Лимфоциты являются одними из ключевых клеток воспаления. Реализация воспаления, сопровождающееся развитием окислительного стресса, зависит от метаболических процессов, протекающих в лимфоцитах крови. Экспериментальные исследования молекулярного управления редокс-статусом и апоптотической гибелью лимфоцитов крови являются актуальными для изучения роли лимфоцитов в патогенезе воспаления. Ведущую роль в поддержании редокс-статуса и окислительной модификации белков лимфоцитов крови играет система глутатиона. Изучение молекулярных механизмов участия окислительной модификации белков в условиях блокирования синтеза глутатиона лежит в основе таргетного управления апоптозом лимфоцитов. Одним из молекулярных подходов экспериментальной науки для изучения клеточного метаболизма является ингибиторный анализ, который позволяет оказывать воздействие на определенные этапы биохимических процессов. Целью исследования явилось установление роли окислительной модификации белков в редокс-регуляции и реализации клеточной гибели лимфоцитов крови в условиях блокирования синтеза глутатиона при окислительном стрессе. В эксперименте изучен эффект воздействия ингибитора синтеза глутатиона *de novo* бутионинсульфоксимины в конечной концентрации 1 мМ на состояние системы глутатиона: содержание восстановленного и окисленного глутатиона, активность глутатионредуктазы и глутатионпероксидазы; на параметры окислительного стресса: концентрация гидроксильного радикала, активных форм кислорода, свободных SH-групп белков; на обратимую и необратимую окислительную модификацию белков: содержание глутатиона, связанного с белками, карбонильных производных белков, окисленного триптофана и битирозина; на реализацию и регуляцию апоптотического типа гибели: количество аннексин V⁺-клеток и активность каспазы-3 в лимфоцитах крови. Блокирование синтеза глутатиона *de novo* в лимфоцитах крови сопровождалось формированием окислительного стресса, дисбалансом системы глутатиона, изменением окислительной модификации белков, сопряженным с активацией реализации и завершенности апоптоза. Полученные результаты свидетельствуют об участии компонентов системы глутатиона в обратимой и необратимой окислительной модификации протеинов, редокс-регуляции и реализации апоптоза лимфоцитов крови. Таким образом, изменение редокс-гомеостаза с помощью глутатионилирования и карбонилирования белков клеток представляет собой один из персонифицированных механизмов управления апоптозом.

Ключевые слова: лимфоциты крови, редокс-статус клетки, апоптоз, система глутатиона, окислительная модификация белков, бутионинсульфоксимины.

Abstract

Lymphocytes are one of the clue inflammation cells. The realization of inflammation accompanied by the development of oxidative stress depends on metabolic processes occurring in blood lymphocytes. Experimental studies of molecular control of the redox status and apoptotic death of blood lymphocytes are relevant to study the role of lymphocytes in the pathogenesis of inflammation. The glutathione system plays a leading role in maintaining the redox status and oxidative modification of blood lymphocyte proteins. The study of molecular mechanisms of oxidative modification of proteins under the conditions of blocking glutathione synthesis is the basis for the targeting control of lymphocyte apoptosis. Inhibitory analysis is a molecular approach in experimental science used to study cellular metabolism by targeting specific stages of biochemical processes. The aim of the research was to determine the role of oxidative protein modification in redox regulation and cell death of blood lymphocytes when glutathione synthesis is inhibited during oxidative stress. The effect of exposure to the de novo glutathione synthesis inhibitor buthionine sulfoximine at a final concentration of 1 mM on the state of the glutathione system was studied in the experiment: content of reduced and oxidized glutathione, activity of glutathione reductase and glutathione peroxidase; on oxidative stress parameters: concentration of hydroxyl radical, reactive oxygen species, free SH-groups of proteins; on reversible and irreversible oxidative modification of proteins: content of glutathione bound to proteins, carbonyl derivatives of proteins, oxidized tryptophan and bityrosine; on realization and regulation of apoptotic death type: the number of annexin V⁺-cells and caspase-3 activity in blood lymphocytes. Blocking of de novo glutathione synthesis in blood lymphocytes was accompanied by the formation of oxidative stress, imbalance of glutathione system, changes in oxidative modification of proteins associated with the activation of apoptosis realization and completion. The obtained results indicate the participation of glutathione system components in reversible and irreversible oxidative modification of proteins, redox regulation and realization of apoptosis of blood lymphocytes. Therefore, modifying redox homeostasis through glutathionylation and carbonylation of cell proteins is a personalized apoptosis control mechanism.

Keywords: blood lymphocytes, cell redox-status, apoptosis, glutathione system, oxidative protein modification, buthionine sulfoximine.

1 Введение

Лимфоциты крови являются ключевыми клетками в реализации срабатывания иммунной защиты и процессов воспаления в организме. Нарушение метаболизма иммунно-компетентных клеток способствует не только снижению защитной функции всего организма, но и дизрегуляции процессов гибели клеток. Все это может приводить к формированию ряда заболеваний, например: онкологических, сердечно-сосудистых, аутоиммунных, дегенеративных заболеваний нервной и соединительной ткани, сопряженных с развитием воспаления [12, 14, 15]. Важное значение в реализации функций лимфоцитов имеет редокс-статус клеток [3, 14]. Изменение окислительно-восстановительного профиля белков лимфоцитов крови способствует их вовлечению в процесс инициации и реализации воспаления. Все большую актуальность приобретают исследования посвященные участия окислительной модификации белков в реализации ключевых процессов в клетках, в том числе апоптоза. Таким образом, целью исследования явилось установление роли окислительной модификации белков в редокс-регуляции и реализации клеточной гибели лимфоцитов крови в условиях блокирования синтеза глутатиона при окислительном стрессе.

Материалы и методы

Для постановки эксперимента использовали лимфоциты выделенные из фракции мононуклеарных лейкоцитов крови у здоровых лиц (11 мужчин и 12 женщин в возрасте от 20 до 45 лет, исследование одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России протокол №4267 от 21.09.2015 г.). Для процедуры взятия крови были использованы вакутейнеры «Becton Dickinson Vacutainer™» (США) с антикоагулянтом гепарином натрия (25 Ед/мл). Выделение мононуклеарных лейкоцитов из венозной крови проводилось с соблюдением стерильных условий методом центрифугирования на градиенте плотности Ficoll-Paque («Sigma-Aldrich», США) ($\rho=1,077$ г/см³) с последующим отделением лимфоцитов на градиенте плотности Перколл («Sigma-Aldrich», США) ($\rho=1,130$ г/см³). Для постановки эксперимента использовали клетки, среди которых было не менее 95% жизнеспособных. Жизнеспособность лимфоцитов крови с использованием красителя 0,4% раствора трипанового синего («Serva», США).

Для оценки влияния бутионинсульфоксимида на систему глутатиона, окислительную модификацию белков, регуляцию и реализацию клеточной гибели лимфоциты крови инкубировали в полной питательной среде, включающую: 90% RPMI-1640 («Вектор-Бест», Россия), 10 % эмбриональной телячьей сыворотки («Invitrogen», США), подвергнутой инактивации в течении 30 минут при температуре 56°C, 2 мМ Непес («Flow», Великобритания), гентамицина (100 мкг/мл) («KRKA», Словения), L-глутамин (0,3 мг/мл) («Вектор-Бест», Россия); в 5 %-й влажной атмосфере CO₂ в течение 18 ч при 37°C при добавлении ингибитора ключевого фермента синтеза глутатиона – γ -глутамилцистеинсинтетазы – бутионинсульфоксимида (BSO) («Sigma-Aldrich», США) в конечной концентрации 1 мМ [9].

45 По окончании времени инкубации лимфоциты подвергали процедуре
46 отмывания от среды инкубирования посредством 0,01 М раствора натрий-
47 фосфатного буфера (рН=7,4) («Amresco», США). Оценка состояния системы
48 глутатиона, содержания свободных SH-групп белков и глутатиона, связанного
49 с белками, проводилась после предварительной депротеинизации лизата
50 лимфоцитов с помощью 5% раствора сульфосалициловой кислоты. Для
51 определения содержания карбонильных производных белков, битирозина,
52 окисленного триптофана и активности каспазы-3 лимфоциты лизировали с
53 помощью 1% раствора тритона X-100 («PanReac», Испания) при 0°C.
54 Методом проточной цитометрии (цитометр (FACS Canto™ II, «Becton
55 Dickinson», США) и программное обеспечение FACSDiva Version 6.1.3
56 («Becton Dickinson», США)) определяли: содержание активных форм
57 кислорода (АФК) по способности взаимодействия 2,7-дихлорфлюоресцеин-
58 диацетата («Sigma-Aldrich», США) с липидными пероксидами и H₂O₂ [7];
59 число апоптозных лимфоцитов оценивали с использованием FITC-меченного
60 аннексина V и пропидия йодида (PI) согласно протоколу фирмы
61 производителя («ANNEXIN V FITC Kit» «TREVIGEN», США).
62 Спектрофотометрическим методом (спектрофотометр СФ-2000-02 («Спектр»,
63 Россия)) определяли: внутриклеточную концентрацию ОН-радикала по его
64 способности в опсонизированных клетках зимозаном («Sigma-Aldrich», США)
65 разрушать модельный субстрат – 2-дезоксид-рибозу («Sigma-Aldrich», США)
66 [11]; содержание восстановленного (GSH) и окисленного глутатиона (GSSG)
67 – посредством каталитической рециркуляции и блокирования SH-групп
68 трипептида 2-винилпиридином («Wako», Япония) с последующим
69 взаимодействием GSH с 5,5'-дитио-бис(2-нитробензойной) кислотой («Sigma-
70 Aldrich», США) и образованием продукта реакции с максимумом поглощения
71 при 412 нм [8], далее рассчитывали величину редокс-статуса клетки путем
72 вычисления отношения GSH к GSSG; концентрацию свободных SH-групп
73 белков – по способности их реагирования с 5,5'-дитио-бис(2-нитробензойной)
74 кислотой [4]; содержание глутатиона, связанного с протеинами – после
75 предварительного его высвобождения из соединения с белками с помощью 1%
76 раствора NaBH₄ («Sigma-Aldrich», США) [4]; активность глутатионредуктазы
77 (EC 1.8.1.7) – по НАДФН-зависимому восстановлению GSSG («Sigma-
78 Aldrich», США) и последующем взаимодействием GSH с 5,5'-дитио-бис(2-
79 нитробензойной) кислотой [13]; активность глутатионпероксидазы (EC
80 1.11.1.9) – по способности взаимодействия субстрата GSH («Sigma-Aldrich»,
81 США) с гидропероксидом трет-бутила («Sigma-Aldrich», США) [2].
82 Спектрофлюориметрическим методом (спектрофлюориметр «СМ 2203»
83 («Solar», Белоруссия)) определяли: содержание окисленного триптофана – при
84 длине волны возбуждения 295 нм и длине волны испускания 325 нм, а
85 флюоресценцию битирозина – при длине волны возбуждения 325 нм и длине
86 волны испускания 415 нм [1, 6]; активность каспазы-3 (EC 3.4.22.56) путем
87 гидролиза субстрата N-ацетил-(Асп-Глу-Вал-Асп)-7-амино-4-метилкумарина
88 («Sigma-Aldrich», США) с образованием флюоресцирующего продукта –

89 аминокислоты-4-метилкумарина при длине волны возбуждения 380 нм и длине волны
90 испускания 430-460 нм [5, 10].

91 Спектрофотометрически на микропланшетном ридере «Multiscan EX»
92 («ThermoLabSystems», Финляндия) при длине волны 450 нм определяли
93 содержание карбонильных производных белков по реакции взаимодействия с
94 2,4-динитрофенилгидразином методом иммунно-ферментного анализа
95 согласно протоколу фирмы-производителя («Immundiagnostik AG», Германия)
96 набором «Carbonyl Proteine ELISA Kit».

97 Полученные результаты подвергали статистической обработке с помощью
98 программы Statistica 13.0. Используя критерий Шапиро-Уилки, проверяли
99 нормальность распределения показателей. Полученные данные выражали в
100 виде медианы (Me), верхнего и нижнего квартилей (Q_1 - Q_3). Для оценки
101 значимости различий независимых выборок использовали непараметрический
102 критерий Манна-Уитни, для определения взаимосвязей между показателями
103 вычисляли коэффициент ранговой корреляции Спирмена при значении $p < 0,05$.

104 Результаты и обсуждение

105 В лимфоцитах крови воздействие BSO сопровождалось значимым снижением
106 содержания GSH в 3,14 раза ($p < 0,05$) относительно показателя в интактных
107 клетках (таблица). Снижение восстановленной формы тиола в лимфоцитах
108 крови в условиях воздействия ингибитора ключевого фермента синтеза GSH –
109 γ -глутамилцистеинсинтетазы, вызвало формирование окислительного
110 стресса, который характеризовался значимым увеличением концентрации ОН-
111 радикала в 3,50 раза ($p < 0,05$), АФК в 1,85 раза ($p < 0,05$), а также снижением
112 величины отношения GSH/GSSG в 4,34 раза ($p < 0,05$), на фоне сопоставимого
113 значения содержания GSSG относительно показателей в интактных клетках
114 (таблица). При этом активность глутатионредуктазы в лимфоцитах крови в
115 условиях воздействия BSO была значимо снижена в 4,10 раза ($p < 0,05$) на фоне
116 сопоставимой активности глутатионпероксидазы относительно результатов в
117 интактных клетках (таблица). Таким образом, со стороны системы глутатиона
118 в условиях блокирования синтеза GSH de novo возникал дисбаланс. Это, в
119 свою очередь, способствовало повреждающему действию свободных
120 радикалов кислорода на молекулы клеток, вызывая в том числе
121 окислительную модификацию белков. В условиях проведенного эксперимента
122 (блокирование синтеза GSH сопровождающееся сниженной активностью
123 глутатионредуктазы) содержание восстановленной формы тиола в клетке
124 было недостаточным для выполнения функции антиоксидантной защиты. В
125 этом случае зафиксированное нами значимое снижение концентрации
126 свободных SH-групп протеинов в 11,87 раза ($p < 0,05$) относительно показателя
127 интактных клеток свидетельствует об участии белковых остатков цистеина в
128 качестве акцепторов токсичных свободных радикалов кислорода (таблица). В
129 этих условиях происходила активация как обратимой, так и необратимой
130 окислительной модификации белков, которая выражалась в значимом
131 увеличении концентрации глутатиона, связанного с белками, в 1,6 раза
132 ($p < 0,05$) и карбонилированных производных белков в 2,19 раза ($p < 0,05$) на

133 фоне сопоставимого значения содержания битирозина и окисленного
134 триптофана относительно показателей в интактных клетках (таблица). При
135 оценке выживаемости лимфоцитов крови в условиях блокирования синтеза
136 GSH de novo было установлено значимое увеличение числа аннексин V⁺-
137 клеток в 1,83 раза ($p < 0,05$) и активности каспазы-3 в 1,23 раза ($p < 0,05$) по
138 сравнению с показателями в интактных клетках (таблица).

139 Выполненный нами корреляционный анализ полученных результатов в
140 лимфоцитах крови в условиях воздействия ингибитора ключевого фермента
141 синтеза GSH позволил установить положительные взаимосвязи между
142 концентрацией АФК и активностью каспазы-3 ($r = +0,829$; $p < 0,05$),
143 содержанием битирозина и числом аннексин V⁺-клеток ($r = +0,900$; $p < 0,05$),
144 активностью глутатионредуктазы и содержанием АФК ($r = +0,829$; $p < 0,05$). Это
145 указывает на вклад низкой активности глутатионредуктазы в формирование
146 окислительного стресса, редокс-зависимую природу срабатывания
147 эффекторной каспазы-3 и участие окислительно-модифицированных белков в
148 реализации апоптоза лимфоцитов крови в условиях блокирования синтеза
149 GSH de novo.

150 Заключение

151 Резюмируя вышеизложенное: окислительно-модифицированные белки
152 выступают потенциальными мишенями для молекулярного редокс-
153 управления клеточной гибелью лимфоцитов крови в условиях окислительного
154 стресса, в том числе при развитии процесса воспаления. Компоненты системы
155 глутатиона представляют собой молекулярные инструменты для управления
156 процессом гибели лимфоцитов крови при формировании патологических
157 процессов.

158 Финансирование

159 Публикация размещена при участии Балтийского федерального университета
160 им. И. Канта

ТАБЛИЦЫ

Таблица 1. Содержание активных форм кислорода, параметры системы глутатиона, окислительной модификации белков и апоптоза в условиях блокирования синтеза глутатиона бутионинсульфоксимином в лимфоцитах крови, Ме (Q₁-Q₃).

Table 1. The content of reactive oxygen forms, parameters of glutathione system, oxidative modification of proteins and apoptosis under the conditions of blocking glutathione synthesis by buthionine sulfoximine in blood lymphocytes, Me (Q₁-Q₃)

Показатели Parameters	Условия инкубирования лимфоцитов крови The conditions of incubation of blood lymphocytes	
	Лимфоциты интактные Intact lymphocytes	Лимфоциты+BSO Lymphocytes+BSO
ОН-радикал, нмоль/мг белка OH-radical, nmol/mg protein	46,165 (36,305-55,040)	161,610 (148,720-184,620) p<0,000379
АФК, у.е. ROS, и.	0,105 (0,099-0,122)	0,194 (0,167-0,203) p<0,003948
GSH, нмоль/мг белка GSH, nmol/mg protein	0,747 (0,741-0,880)	0,238 (0,194-0,315) p<0,001946
GSSG, нмоль/мг белка GSSG, nmol/mg protein	0,110 (0,099-0,114)	0,175 (0,069-0,223) p=0,438579
GSH/GSSG	7,165 (6,520-8,000)	1,645 (1,275-3,035) p<0,001946
Глутатионредуктаза, нмоль/мин×мг белка Glutathione reductase, nmol/min×mg protein	312,80 (287,08-321,70)	76,30 (69,79-79,45) p<0,001745
Глутатионпероксидаза, мкмоль/мин×мг белка Glutathione peroxidase, μmol/min×mg protein	5,680 (5,055-6,995)	5,585 (4,065-6,970) p=0,599511
Свободные SH-группы белков, нмоль/мг белка Free SH-group proteins, nmol/mg protein	2,843 (1,792-2,940)	0,243 (0,197-0,365) p<0,003948

Глутатион, связанный с белками, нмоль/мг белка Glutathione bound to proteins, nmol/mg protein	0,050 (0,040-0,062)	0,075 (0,062-0,092) p<0,030640
Карбонилированные производные белков, нмоль/мг белка Protein carbonyl derivatives, nmol/mg protein	0,149 (0,142-0,151)	0,326 (0,309-0,332) p<0,003948
Окисленный триптофан, у.е./мг белка Oxidized tryptophan u./mg protein	2,307 (2,155-2,339)	1,823 (1,792-2,710) p=0,194852
Битирозин, у.е./мг белка Bityrosine, u./mg protein	0,132 (0,127-0,198)	0,152 (0,132-0,169) p=0,953011
Аннексин-V ⁺ -клетки, % Annexin V ⁺ -cells, %	23,115 (21,900-24,500)	42,200 (29,600-45,000) p<0,006170
Каспаза-3, пмоль/мин×мг белка Caspase-3, pmol/min×mg protein	108,440 (103,482-112,662)	133,870 (130,544-150,230) p<0,003948

Примечание: АФК – активные формы кислорода, GSH – восстановленный глутатион, GSSG – окисленный глутатион, BSO – бутионинсульфоксимин; p – уровень значимости различий по сравнению с группой лимфоциты интактные.

Note: ROS – reactive oxygen species, GSH – Reduced glutathione, GSSG – Oxidized glutathione, BSO – buthionine sulfoximine; p – significance level of the differences as compared to the intact lymphocytes group.

ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ_МЕТАДААННЫЕ

Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

Носарева Ольга Леонидовна – доктор медицинских наук, доцент (звание), профессор кафедры биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики Сибирского государственного медицинского университета;

адрес: 634050, Россия, г. Томск, Московский тракт, 2ж

телефон: 8(923)411-19-51;

e-mail: olnosareva@yandex.ru.

Ol'ga L. Nosareva – Dr. Sci. Med., Associate Professor, Professor of Department of biochemistry and molecular biology with course of clinical laboratory diagnostics Siberian State Medical University;

address: 634050, Russian Federation, Tomsk, Moskovsky str., 2

telephone: 8(923)411-19-51;

e-mail: olnosareva@yandex.ru.

Блок 2. Информация об авторах

Степовая Елена Алексеевна – доктор медицинских наук, профессор (звание), профессор кафедры биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики Сибирского государственного медицинского университета;

адрес: 634050, Россия, г. Томск, Московский тракт, 2;

ORCID: 0000-0001-9339-6304;

e-mail: muir@mail.ru

Elena A. Stepovaya – Dr. Sci. Med., Professor, Professor of Department of biochemistry and molecular biology with course of clinical laboratory diagnostics Siberian State Medical University;

ORCID: 0000-0001-9339-6304;

e-mail: muir@mail.ru

Блок 3. Метаданные статьи

РОЛЬ ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ МОДИФИКАЦИИ БЕЛКОВ В РЕГУЛЯЦИИ И РЕАЛИЗАЦИИ КЛЕТОЧНОЙ ГИБЕЛИ ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ В УСЛОВИЯХ БЛОКИРОВАНИЯ СИНТЕЗА ГЛУТАТИОНА ПРИ ОКИСЛИТЕЛЬНОМ СТРЕССЕ

THE ROLE OF OXIDATIVE MODIFICATION OF PROTEINS IN THE REGULATION AND REALIZATION OF CELL DEATH OF BLOOD LYMPHOCYTES UNDER THE CONDITIONS OF BLOCKING GLUTATHIONE SYNTHESIS UNDER OXIDATIVE STRESS

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:

РОЛЬ ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ МОДИФИКАЦИИ
THE ROLE OF OXIDATIVE MODIFICATION

Ключевые слова: лимфоциты крови, редокс-статус клетки, апоптоз, система глутатиона, окислительная модификация белков, буютионинсульфоксимин.

Keywords: blood lymphocytes, cell redox-status, apoptosis, glutathione system, oxidative protein modification, buthionine sulfoximine.

Объединенный иммунологический форум 2024.

Количество страниц текста – 4,

Количество таблиц – 1,

Количество рисунков – 0.

21.03.2024

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Порядковый номер ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи или ее doi.
1.	Бекман Э.М., Баранова О.А., Губарева Е.В., Шуленина Л.В., Москвина С.Н., Данилогорская Ю.А., Азизова О.А. Оценка устойчивости к оксидативному стрессу плазмы крови по уровню окисляемости белков и липидов при металлкаatalизируемом окислении // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2006. – Т. 142, №9. – С. 268-272.	Bekman Je.M., Baranova O.A., Gubareva E.V., Shulenina L.V., Moskvina S.N., Danilogorskaja Ju.A., Azizova O.A. Assessment of stability to an oksidativny stress of plasma of blood on level of oxidability of proteins and lipids at metallkataliziruyemy oxidation. <i>Bulletin of Experimental Biology and Medicine, 2006, Vol. 142, no. 9, pp. 268-272. (In Russ.)</i>	
2.	Карпищенко А.И. Медицинские лабораторные технологии. – СПб.: Интермедика, 1998. – Т. 2. – 656 с.	Karpishchenko A.I. Medical laboratory techniques. <i>Saint Petersburg, Intermedika, 1998, Vol. 2, 656 p. (In Russ.)</i>	
3.	Носарева О.Л., Степовая Е.А., Шахристова Е.В., Алексеева О.Н.,	Nosareva OL, Stepovaya EA, Shakhristova EV, Alekseeva ON,	doi: 10.1134/S0869813919030063

	Кузьменко Д.И., Садыкова А.А., Новицкий В.В. Роль редокс-статуса и окислительной модификации белков в реализации апоптоза лимфоцитов крови человека в норме и при экспериментальном окислительном стрессе // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2019. – Т. 105, №3. – С. 327-338.	Kuzmenko DI, Sadykova AA, Novitsky VV. The Role of Redox Status and Oxidative Modification of Proteins in Implementing Apoptosis in Human Blood Lymphocytes in Norm and Under Experimental Oxidative Stress. <i>Russian Journal of Physiology</i>, 2019, Vol. 105, no. 3, pp.327-338. (In Russ.)	
4.		Burchill B.R., Oliver J.M., Pearson C.B., Leinbach E.D., Berlin R.D. Microtubule dynamics and glutathione metabolism in phagocytizing human polymorphonuclear leukocytes. <i>J. Cell Biol.</i>, 1978, Vol. 76, no. 2, pp. 439-447.	
5.		Cohen G.M. Caspases: the executioners of apoptosis. <i>Biochem. J.</i>, 1997, Vol. 326, pp. 1-16.	

6.		Davies K.J. Protein damage and degradation by oxygen radicals. 1. General aspects. <i>J. Biol. Chem.</i>, 1987, Vol. 262, pp. 9895-9901.	
7.		Halliwell B., Whiteman M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? <i>Br. J. Pharmacol.</i>, 2004, Vol. 142, no. 2, pp. 231-255.	
8.		Kojima S., Nakayama K., Ishida H. Low dose gamma-rays activate immune functions via induction of glutathione and delay tumor growth. <i>J. Radiat. Res.</i>, 2004, Vol. 45, no. 1, pp. 33-39.	
9.		Laragione T., Bonetto V., Casoni F., Massignan T., Bianchi G., Gianazza E., Ghezzi P. Redox regulation of surface protein thiols: identification of integrin-4 as a molecular target	doi: 10.1073/pnas.2434516100

		by using redox proteomics. <i>Proc. Natl. Acad. Sci. USA</i>, 2003, Vol. 100, no. 25, pp. 14737-14741.	
10.		Nicholson D.W. Caspase structure, proteolytic substrates, and function during apoptotic cell death. <i>Cell Death and Differ.</i>, 1999, Vol. 6, pp. 1028-1042.	
11.		Thom S.R., Elbuken M.E. Oxygen-dependent antagonism of lipid peroxidation. <i>Free Radic. Biol. Med.</i>, 1991, Vol. 10, no. 6, pp. 413-426.	
12.		Todosenko N., Khaziakhmatova O., Malashchenko V., Yurova K., Bograya M., Beletskaya M., Vulf M., Mikhailova L., Minchenko A., Soroko I., Khlusov I., Litvinova L. Adipocyte- and Monocyte-Mediated Vicious Circle of Inflammation and Obesity (Review of Cellular and	doi: 10.3390/ijms241512259

		Molecular Mechanisms). <i>Int. J. Mol. Sci.</i>, 2023, Vol., 24, no. 15, pp. 12259.	
13.		Worthington D.J., Rosemeyer M.A. Glutathione reductase from human erythrocytes. Catalytic properties and aggregation. <i>Eur. J. Biochem.</i>, 1976, Vol. 67, no. 1, pp. 231-238.	
14.		Zhang Z., Zhao L., Zhou X., Meng X., Zhou X. Role of inflammation, immunity, and oxidative stress in hypertension: New insights and potential therapeutic targets. <i>Front. Immunol.</i>, 2023, Vol. 13, pp. 1098725.	doi: 10.3389/fimmu.2022.1098725
15.		Zhou J., Zhu Z., Bai C., Sun H., Wang X. Proteomic profiling of lymphocytes in autoimmunity, inflammation and cancer. <i>J. Transl. Med.</i>, 2014, Vol. 12, pp. 6.	doi: 10.1186/1479-5876-12-6

